

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКЗОГЕННИХ ІНДУКТОРІВ НА УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ПРИ ФАГОЦИТОЗІ

Є.Г. ЧЕРНЯВСЬКА^{1*}, О.М. КЛІМОВА²

¹ *магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА*

² *професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, д-р. біол. наук, проф., НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА*

^{*} *email: liche125@yandex.ua*

Актуальним питанням біотехнології на сьогоднішній день є пошук нових препаратів та апробація їх біологічної активності. На ринку представлена група препаратів, що посилюють роботу імунітету, але існує проблема оцінки їх активності та біодоступності.

Основною ланкою первинного імунітету є фагоцитоз – процес поглинання і переварювання клітиною різних агентів, що є чужорідними для організму. Метою даної роботи є дослідження біологічного ефекту індуктору утворення активних форм кисню на модельній тест-системі фагоцитозу.

Найбільший внесок у вивчення явища фагоцитозу вклав І.І. Мечников, та саме йому належить фагоцитарна теорія запалення. Він розділив усі клітини, що здатні до фагоцитозу, на мікро- та макрофагів, за активністю яких можна оцінити протікання фагоцитозу. До таких клітин відносять нейтрофіли, еозинофіли, базофіли, моноцити, гістіоцити і лімфоцити та інші. Першими до місця запалення емігрують нейтрофіли.

Усього чотири процеси забезпечують фагоцитоз: наближення до об'єкту, прилипання (адгезія), поглинання та перетравлення. Провідну роль грає перетравлення об'єкту, яке забезпечується двома механізмами: киснезалежним та кисненезалежним. Саме киснезалежні механізми грають провідну роль у деструкції патогену. Вони пов'язані зі значним підвищенням інтенсивності метаболізму за участю кисню – кисневим вибухом. У результаті утворюються активні форми кисню, які мають деструктивну дію на патогени [1].

Сучасна медицина використовує багато синтетичних індукторів утворення активних форм кисню у фагоцитах для нейтралізації чужорідних об'єктів, але найбільш перспективними вважають препарати мураміддіпептидного ряду.

У роботі був використан препарат Л1, що є лікарською формою глюкозаміну мураміддіпептиду. Його виробництво представляє конденсацію дисахариду з дипептидом в глікопептид, що й є лікарською формою. Синтез глікопептида здійснюють шляхом прямої конденсації незахищеного дисахариду N-ацетилглюкозаміну-N-ацетилмурамової кислоти з дипептидом L-аланілу-D-ізоглутаміном за допомогою конденсуючих агентів. Діюча речовина препарату є фрагментом пептидоглікану, який входить до складу клітинної стінки бактерій [2].

Існує декілька методик оцінки протікання фагоцитозу в імункомпетентних клітинах. У роботі було проведено дослідження активності нейтрофілів за допомогою тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест), а також була визначена перетравлююча активність методом флюоресцентної мікроскопії. Усі дослідження проводились на базі ГУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН України».

Був проведений експеримент з вивчення ефекту препарату Л1 на протікання киснезалежного фагоцитозу за допомогою визначення кількості клітин, що відновлюють диформазан в спонтанному та стимульованому тесті, визначення індексу стимуляції. Дослідження проводилось у системі *in vitro* при використанні гепіризованої крові, та у системі *in vivo* – на лабораторних щурах.

Даний метод заснований на здатності нейтрофілів поглинати барвник нітросиній тетразолій і відновлювати його гранули в нерозчинний діформазан. Цей тест характеризує киснезалежні антиінфекційні системи фагоцитів.

У результаті, у системі *in vitro* та *in vivo* була виявлена індукція утворення активних форм кисню, що супроводжується підвищенням показників киснезалежного фагоцитозу, що говорить про прооксидантну дію препарату Л1.

Також, було проведено дослідження денатурації бактеріального антигена *in vitro* з використанням барвника акридинового помаранчевого. Особливістю методу є використання дріжджових клітин, що мають зелену люмінесценцію постійної інтенсивності при їх обробкою барвником акридиновим помаранчевим в низькій концентрації.

Нами був визначений фагоцитарний індекс – кількість клітин, що брали участь у фагоцитозі, і фагоцитарне число – середня кількість клітин *S. cerevisiae*, що були поглинені одним нейтрофілом. У результаті, при додаванні препарату Л1 фагоцитарний індекс збільшився на 25%, а фагоцитарне число – на 14%. Також визначали відсоток активних фагоцитів, та було виявлено, що при використанні препарату, цей показник збільшується майже на 30%. Таким чином, було виявлена денатурація мікробної ДНК під дією препарату Л1 *in vitro* в порівнянні з контролем [3].

У роботі доведено, що препарат Л1 проявляє себе як сильний індуктор прооксидантних реакцій та активує денатурацію ДНК мікроорганізмів клітинах, що фагоцитують. Таким чином, даний препарат відповідає лінгвістичній анотації.

Список літератури:

1. Патологическая физиология : Учебн. для студ. высш. фарм. учеб. учреждений и фарм. ф-тов высш. мед. учеб. учреждений. / [Березнякова А.И., Кононенко Н.Н., Крижна С.И. та ін]. ; під ред. Березнякової А.И. – Х. : Вид-во НФаУ. – 2007. – 491 с
2. Андропова, Т.М. Ликопид (ГМДП) – современный отечественный высокоэффективный иммуномодулятор / Т.М. Андропова, Б.В. Пінегін, І.Г. Козлов // Ликопид в онкології. – Москва. – 2008. – С. 3-11.
3. Чернявська, Є.Г. Дослідження екзогенних індукторів продукування активних форм кисню при ендоцитозі та фагоцитозі: дипл. робота / Є.Г. Чернявська. – Харків. – 2017. – 74 с.